



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA CHEMICKÁ**

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ**

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**OBSAH AROMATICKY AKTIVNÍCH LÁTEK  
V NEČOKOLÁDOVÝCH CUKROVINKÁCH**

THE CONTENT OF AROMA ACTIVE COMPOUNDS IN SWEETS

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

BACHELOR'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Sabina Paulišová**

**VEDOUCÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**Ing. Eva Vítová, Ph.D.**

**BRNO 2018**

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1302/2017  
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií  
Studentka: **Sabina Paulišová**  
Studijní program: Chemie a technologie potravin  
Studijní obor: Potravinářská chemie  
Vedoucí práce: **Ing. Eva Vítová, Ph.D.**  
Akademický rok: 2017/18

### Název bakalářské práce:

Obsah aromaticky aktivních látek v nečokoládových cukrovinkách

### Zadání bakalářské práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
  - nečokoládové cukrovinky – charakteristika, složení, vlastnosti
  - technologie výroby
  - aromaticky aktivní látky – charakteristika, rozdělení
  - plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC–MS) – princip, popis, instrumentace
2. Pomocí metody SPME–GC–MS identifikujte aromaticky aktivní látky ve vzorcích nečokoládových cukrovinek
3. Porovnejte aromatický profil jednotlivých vzorků

### Termín odevzdání bakalářské práce: 21.5.2018

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

-----  
Sabina Paulišová  
student(ka)

-----  
Ing. Eva Vítová, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2018

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **Abstrakt**

Tato bakalářská práce se zabývá identifikací aromaticky aktivních látek ve vybraných vzorcích nečokoládových cukrovinek. Na základě získaných výsledků je porovnáván aromatický profil jednotlivých vzorků.

Teoretická část se zabývá aromaticky aktivními látkami, legislativou a technologickou výrobou nečokoládových cukrovinek. Dále je zde uvedena experimentální technika a použité metody v praktické části, tedy mikroextrakce tuhou fází a plynová chromatografie s hmotnostní detekcí.

V experimentální části byly identifikovány těkavé aromaticky aktivní látky ve vzorcích kyselých želé bonbonů zelené barvy dostupných v běžné tržní síti. K tomu byla použita metoda HS-SPME-GC-MS.

Jednotlivé vzorky se v závislosti na výrobci lišily v typu a počtu těkavých sloučenin. Celkem bylo nalezeno 72 různých sloučenin, z toho se jednalo o 11 aldehydů, 14 alkoholů, 27 esterů, 1 heterocyklus, 8 karboxylových kyselin, 6 ketonů, 4 uhlovodíky a 1 sirnou sloučeninu.

## **Abstract**

This bachelor thesis focuses on identification of aroma active compounds in selected samples of non-chocolate sweets. Based on the results obtained, the aromatic profile of the individual samples is compared.

The theoretical part deals with aroma active compounds, legislation and technology of manufacturing non-chocolate sweets. Further experimental technique and the methods used in practical part, namely solid phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometry detection are presented.

In the experimental part volatile aroma active substances were identified in green colored jelly candy samples available in the common market. For this purpose, the HS-SPME-GC-MS method was used.

The individual samples differed in type and number of volatile compounds, depending on the manufacturer. In total 72 different compounds, including 11 aldehydes, 14 alcohols, 27 esters, 1 heterocycle, 8 carboxylic acids, 6 ketones, 4 hydrocarbons and 1 sulfur compound were found.

## **Klíčová slova**

Cukrovinky, aromaticky aktivní látky, SPME, GC-MS

## **Keywords**

Sweets, aroma active compounds, SPME, GC-MS

PAULIŠOVÁ, S. *Obsah aromaticky aktivních látek v nečokoládových cukrovinkách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 42 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studentky

*Poděkování:*

*Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucí své bakalářské práce Ing. Evě Vítové, Ph.D. za odborné rady a příjemnou spolupráci. Velké poděkování patří i mé rodině, která je mi po celou dobu studia velkou oporou.*

## OBSAH

1	Úvod .....	7
2	Teoretická část .....	8
2.1	Aromaticky aktivní látky .....	8
2.1.1	Legislativa aromaticky aktivních látek .....	8
2.1.2	Potenciálně alergenní aromatické látky .....	10
2.2	Nečokoládové cukrovinky .....	14
2.3	Technologie výroby nečokoládových cukrovinek .....	15
2.3.1	Cukrovinky s vykrytalizovanými cukry .....	16
2.3.1.1	Komprimáty .....	16
2.3.1.2	Fondánové cukrovinky .....	16
2.3.1.3	Marcipán .....	16
2.3.2	Cukrovinky s nevykrytalizovanými cukry .....	17
2.3.2.1	Gumovité cukrovinky .....	17
2.3.2.2	Želé .....	18
2.3.2.3	Šlehané cukrovinky .....	19
2.3.2.4	Kandyty .....	20
2.3.2.5	Karamely .....	20
2.4	Experimentální technika a použité metody .....	20
2.4.1	Mikroextrakce tuhou fází .....	21
2.4.2	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí .....	21
3	Experimentální část .....	23
3.1	Laboratorní vybavení .....	23
3.1.1	Přístroje .....	23
3.1.2	Plyny .....	23
3.1.3	Pracovní pomůcky .....	23
3.2	Analyzované vzorky .....	23
3.3	Metoda HS-SPME-GC-MS .....	26
3.3.1	Podmínky SPME extrakce .....	26
3.3.2	Podmínky GC-MS analýzy .....	26
3.4	Vyhodnocení výsledků HS-SPME-GC-MS analýzy .....	26
4	Výsledky a diskuse .....	27
4.1	Identifikace aromaticky aktivních látek ve vzorcích .....	27
4.1.1	Srovnání identifikovaných sloučenin ve vzorcích .....	31

5	Závěr .....	33
6	Použitá literatura .....	34
7	Seznam použitých zkratek a symbolů .....	36
8	Seznam příloh .....	37
9	Přílohy .....	38

# 1 ÚVOD

Počátky cukrářské výroby se objevují již ve velmi dávných dobách. Cukrovinky byly vyráběny již ve starověku. Jejich podoba se ale zdaleka nepřibližovala dnešním bonbonům. Jednalo se totiž o sladké usušené ovoce, sladké šťávy z rostlin, a především o med [1].

Přelom ve výrobě cukrovinek nastal na konci středověku, kdy se začala pěstovat cukrová třtina v Severní a Jižní Americe. Cukr, původem z Indie, se díky námořním plavbám rozšířil celosvětově. Kromě čokoládových výrobků, které v té době měly velký rozvoj kvůli velkému pěstování kakaovníku a cukrové třtiny, byly velmi populární i nečokoládové cukrovinky [1].

Cukrovinky dnešní podoby se však začaly vyrábět v Evropě a USA až v 19. století. V té době se z malých manufaktur rozrůstaly velké závody, které přispěly k založení společností existujících dodnes. Jsou jimi například Nestlé, Lindt, Toblerone a další [1].

Sladkosti jsou atraktivní zejména pro děti, proto by se měly klást co největší nároky na kvalitu. Nečokoládové cukrovinky velmi často obsahují množství aditivních látek, kterými se výrobci snaží zlepšit senzorické vlastnosti svých výrobků. Nejčastěji se jedná o různá barviva a aroma, která jsou ne vždy přírodního původu. Při vyšší konzumaci sladkostí, tedy cukrů a přítomných přídatných látek, se mohou objevit různá onemocnění. Nejčastější z nich jsou obezita, diabetes, zvýšená tvorba zubního kazu, v případě syntetických látek i hyperaktivita a nepozornost u dětí.

Některé aromatické látky mohou u citlivějších jedinců vyvolat alergickou reakci. Tyto látky nejsou v České republice legislativně regulovány, nejsou tedy pro jejich výskyt a množství v potravinách stanovené žádné limity.

Teoretická část práce se zabývá přehledem nečokoládových cukrovinek, technologií výroby a aromaticky aktivními látkami se zaměřením na alergenní a potenciálně alergenní. Experimentální část se zabývá analýzou vybraných druhů kyselých želé bonbonů pomocí metody HS-SPME-GC-MS se zaměřením na identifikaci především aromaticky aktivních látek s alergenními účinky.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

Teoretická část se zabývá aromaticky aktivními látkami (AAL), jejich dělením a možnostmi použití v potravinách. Hlavní zaměření se týká těch aromaticky aktivních látek, které jsou prokázány jako alergenní nebo potenciálně alergenní. Obsahuje popis nečokoládových cukrovinek, tj. charakteristiku, rozdělení a technologii výroby. Dále je zde popis metody použité v experimentální části, její princip a instrumentace.

### 2.1 Aromaticky aktivní látky

Aromaticky aktivní látky jsou pro člověka velmi významným senzorickým faktorem. Aromaticky aktivní látky jsou vnímatelné smysly, v tomto případě čichem. Pro spotřebitele je velmi důležitý celkový dojem potravin, tedy vůně, barva, chuť nebo textura (takzvané senzorické vlastnosti). Dalšími atributy mohou být nutriční hodnoty nebo obsah vitaminů dané pochutiny [2].

Vůně potravin je často způsobena velkým počtem aromatických látek. Celkový počet aromatických látek v potravinách může být až 10 tisíc, běžně to bývá několik set různých sloučenin. Charakteristickou vůni způsobují jen některé sloučeniny, protože ne všechny se podílejí na tvorbě celkového aroma. Výsledný vjem je pak důsledkem jen několika desítek různých sloučenin. Pouze omezený počet potravin obsahuje několik málo sloučenin s charakteristickým aroma pro danou potravinu. Jedná se pak o klíčové složky vůně. Typickým příkladem těchto látek je například diallyldisulfid u česneku, anethol u anýzu nebo geosmin u červené řepy [2].

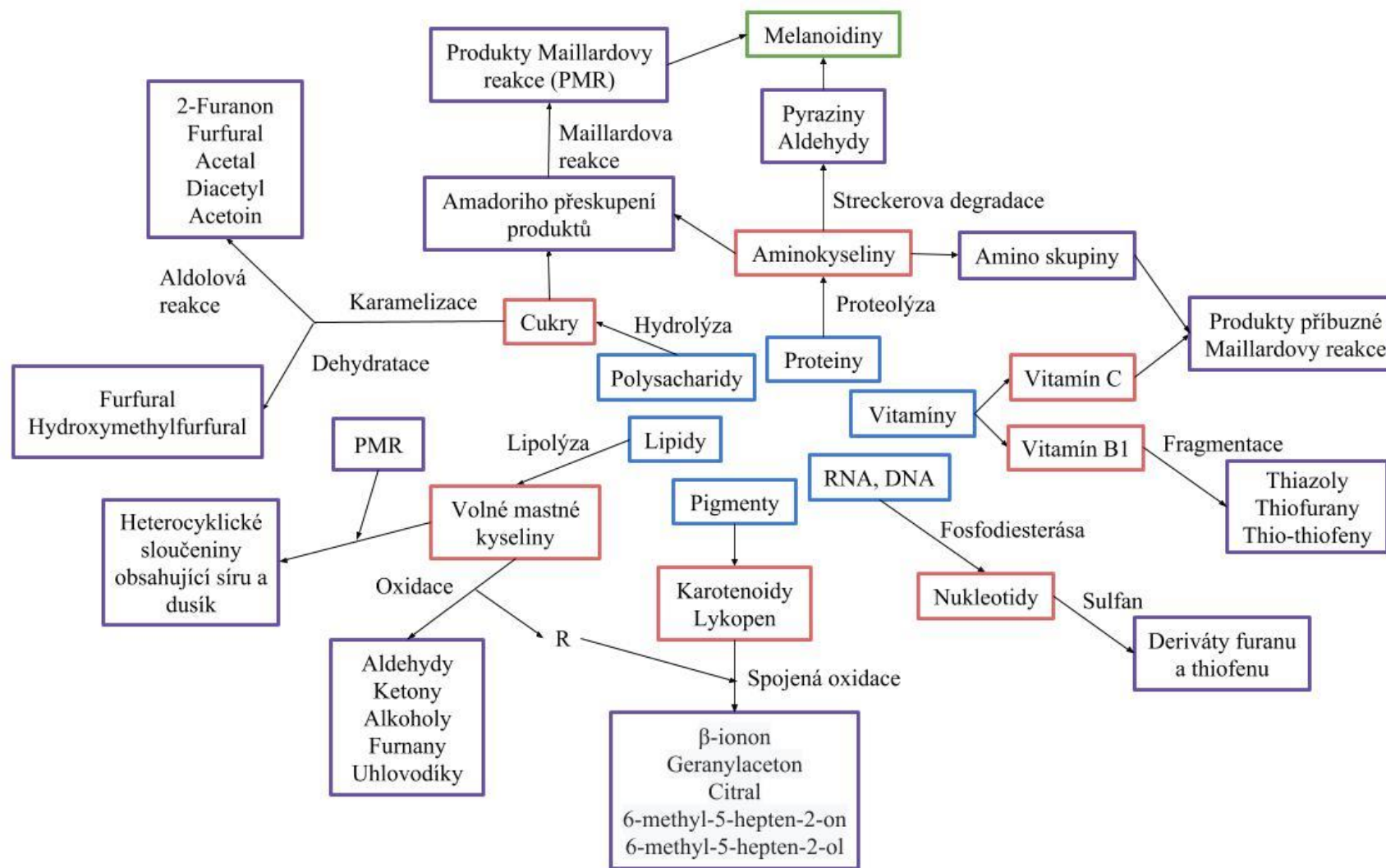
Senzoricky aktivní látky lze rozdělit podle původu na primární a sekundární. Primární senzoricky aktivní látky se v potravinách nacházejí jako produkty anabolických, katabolických nebo jiných biochemických procesů. K významným primárním aromatickým látkám patří například terpeny. Sekundární aromaticky aktivní látky vznikají jako produkty metabolismu mikroorganismů (kvasné procesy) nebo oxidací a degradací nestabilních složek potravin (karotenoidů, lipidů). Tyto látky se v potravinách vyskytují v senzoricky inaktivní formě a teprve enzymaticky katalyzovanými reakcemi z nich vznikají látky aktivní. Zmíněné látky vznikají i při skladování a zpracování. Jedná se o produkty enzymových i neenzymových reakcí důležitých složek potravin, zejména tedy sacharidů, lipidů a bílkovin, případně jiných složek. Postupné přeměny a vznik sekundárních aromaticky aktivních látek je znázorněn na Obrázku 1 [2].

#### 2.1.1 Legislativa aromaticky aktivních látek

Použití aromaticky aktivních látek je upraveno legislativou. Nařízení č. 1334/2008/ES se vztahuje na látky určené k aromatizaci potravin a týká se i některých složek potravin s aromatickým charakterem, které se do potravin přidávají pro zlepšení chuti a aroma. Tím mohou přispět k přítomnosti nežádoucích látek [4].

Legislativně jsou aromatické látky definované jako „chemické látky, které zahrnují aromatické látky získané chemickou syntézou anebo izolované za použití chemických procesů a přírodní aromatické látky“. Aromatické přípravky jsou pak definovány jako „látky určené k aromatizaci, jiné než definované chemické látky, získané z materiálů rostlinného, živočišného nebo mikrobiologického původu vhodnými fyzikálními, enzymatickými nebo mikrobiologickými procesy, buď v surovém stavu materiálu, nebo po zpracování za účelem lidské spotřeby“ [4].





Obrázek 1: Vznik sensoricky aktivních látek – upraveno [3]

K aromatizaci potravin lze použít pouze takové látky, které jsou svými vlastnostmi zdravotně nezávadné. Legislativně je zakázáno nebo omezeno použití některých látek, které představují riziko pro lidské zdraví a vznikají během výroby látek určených k aromatizaci. K výrobě aromatických látek lze použít několik procesů, a to fyzikální, enzymatické nebo mikrobiologické. V případě fyzikálních procesů nesmí dojít k chemické změně složek. U enzymatických a mikrobiologických procesů mohou být použity jen schválené kultury a enzymy pro potravinářskou výrobu [2, 4].

Nařízení pro látky určené k aromatizaci se netýká syrových potravin bez dalšího zpracování, jednosložkových potravin, jako jsou například koření, byliny, čaje nebo odvary. Použití látek k aromatizaci musí být za účelem zlepšení nebo úpravy vůně nebo chuti ve prospěch spotřebitele. Tyto látky lze použít, pokud splňují kritéria nařízení. Musí být bezpečné, proto je důležité prozkoumat rizika před povolením použití v potravinách. Velmi důležité je i dávkování, aby nevhodným použitím aromatu nedošlo k nechtěnému poškození kvality výrobku. Použití některých látek je z bezpečnostních důvodů zakázáno nebo omezeno. Mezi látky s tímto omezením patří například kyselina kyanovodíková nebo quassin při použití v alkoholických nápojích [4].

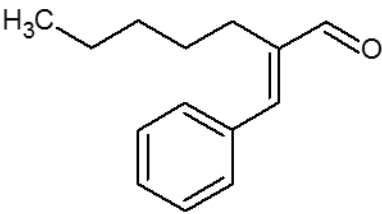
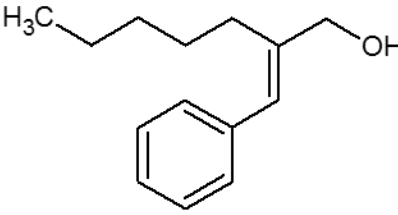
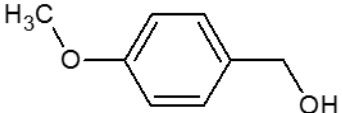
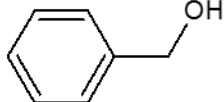
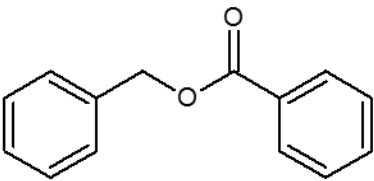
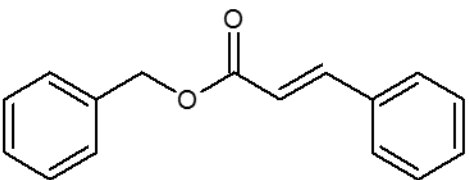
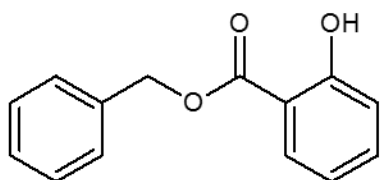
### **2.1.2 Potenciálně alergenní aromatické látky**

Alergeny jsou látky, které u citlivých osob vyvolávají imunitní reakci. Jedná se o antigeny, které vyvolaly tvorbu protilátek. Antigeny jsou bílkoviny nebo její části. Přesné pořadí aminokyselin pak určuje specifické vlastnosti bílkoviny, včetně možné tvorby protilátek proti ní samotné. Potravinové alergenys způsobují nežádoucí reakce na určitý typ potravin. Nejrozšířenějším alergenem u nás je mléko, dále vejce, lepek, sója nebo ryby. V neposlední řadě může jít i o aromatické látky, které se přidávají do potravin za účelem zlepšení senzorických vlastností. Alergie se pak může projevat kožními reakcemi (kopřivka, ekzém), reakcemi dýchacích cest (rýma) nebo reakcemi zažívacího traktu (zvracení, bolesti břicha) [5, 6].

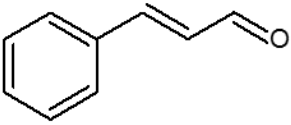
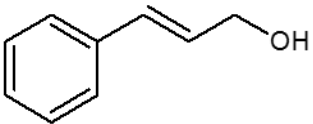
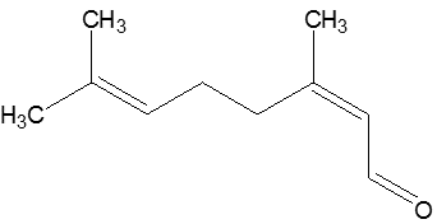
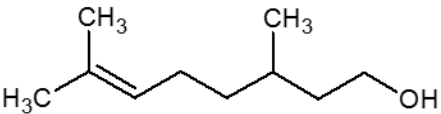
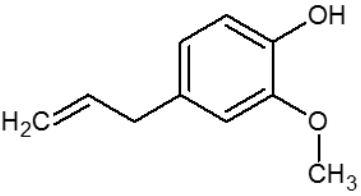
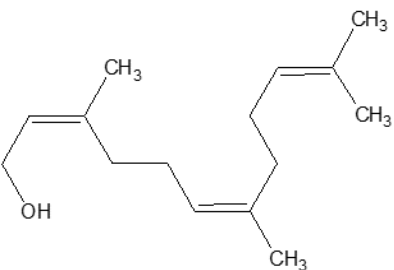
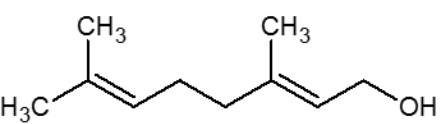
Problematika aromatických látek v potravinách je ošetřena výše zmíněným Nařízením č. 1334/2008/ES a příslušnými prováděcími přílohami. Kosmetická direktiva vydaná v roce 2003 Evropskou Unií (2003/15/EC) stanovuje podmínky použití 26 aromatických látek, které jsou klasifikované jako potenciálně alergenní. U dvou látek se jedná o mechové extrakty, zbylých 24 látek je definováno chemicky. Ve všech případech jsou výrobci povinni označit použití těchto látek na obalu při překročení definovaného množství. V ostatních případech lze vonné látky zahrnout termínem „aroma“ nebo „parfume“. Nařízení č. 1334/2008/ES upravuje použití aromatických látek obecně, pro potravinářskou výrobu není použití vonných látek, kromě kumarinu, legislativně ošetřeno. Kumarin je upraven především kvůli toxicitě a podezření na karcinogenní účinky [4, 8, 9].

Přehled všech 26 potenciálně alergenních aromatických látek je znázorněno v Tabulce 1, která obsahuje jejich chemický vzorec, vlastnosti a použití [2, 4, 7, 10–13].

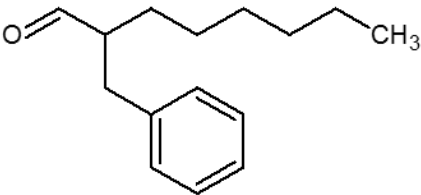
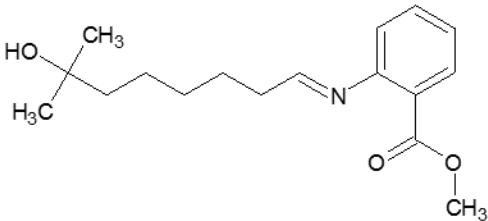
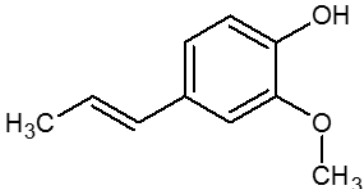
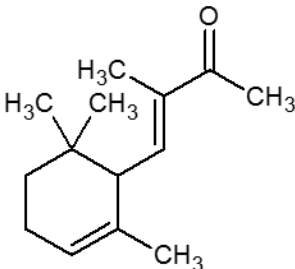
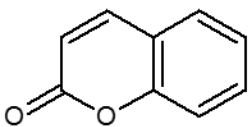
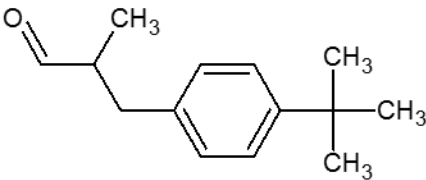
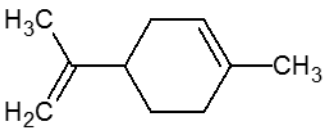
Tabulka 1: Potenciálně alergenní aromatické látky a jejich vlastnosti

Alergen	Struktura	Vlastnosti
amylcinnamal		Žlutá kapalina, vůni připomíná jasmín. Používá se v chemickém průmyslu k parfemaci nebo v potravinářství jako ochucovadlo cukrovinek, žvýkaček a pečiva.
amylcinnamyl alkohol		Bezbarvá až žlutavá kapalina. Má jemnou květinovou vůni, využívá se při výrobě parfémů a potravin.
anisalkohol		Bezbarvá až žlutavá kapalina nebo krystalická látka. Běžně se vyskytuje v přírodě. Používá se jako ochucovadlo potravin (želatina, pudink, nápoje) nebo v kosmetickém průmyslu (krémy, pudry).
benzylalkohol		Čirá kapalina s mandlovou vůní. Přirozeně se vyskytuje v některých rostlinách (jasmín, hyacint). Používá se jako přísada do aromat likérů, brusinek, ovoce, cukrovinek, čokolád a jemného pečiva.
benzylbenzoát		Bezbarvá kapalina nebo bílá tuhá látka se sladkou vůní. Používá se jako stabilizátor aromat, zároveň sám působí jako vonná látka. Vyskytuje se jako konzervant, léčivech a insekticidech.
benzylcinnamát		Bílá až světle žlutá krystalická látka s balzamickou vůní. Vyskytuje se v heřmánku, růžích, citronové trávě nebo levanduli. Používá se v kosmetických výrobcích.
benzylsalicylát		Bezbarvá kapalina se sladkou bylinnou vůní. Vyskytuje se v zeleném čaji. Používá se v kosmetických výrobcích a medikamentech.

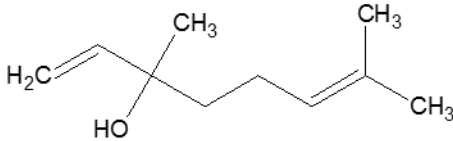
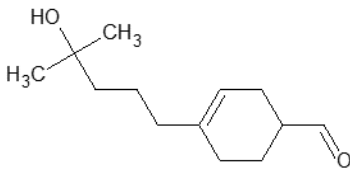
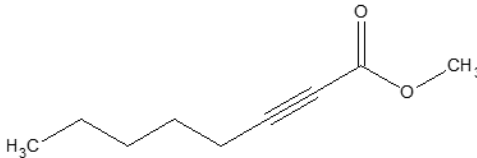
Tabulka 2: Potenciálně alergenní aromatické látky a jejich vlastnosti – pokračování

Alergen	Struktura	Vlastnosti
cinnamal		Žlutá olejovitá kapalina s vůní skořice. Je součástí esenciálních olejů, používá se pro ochucení potravin (žvýkačky, zmrzliny, nápoje).
cinnamyl alkohol		Bílá krystalická látka nebo nažloutlá olejová kapalina. Je obsažen v listech skořice nebo peruánském balzámu. Voní po hyacintu a používá se do parfémů a deodorantů.
citral		Světle žlutá olejovitá kapalina s citronovou vůní. Vyskytuje se v bazalce, meduňce, limetce, citrónu nebo pomeranči. Používá se jako ochucovadlo nebo při výrobě parfémů.
citronellol		Světle žlutá olejovitá kapalina s nasládlou vůní. Vyskytuje se v ovoci, černém čaji a rostlinných olejích. Využívá se v potravinářství, při výrobě parfémů a některých pesticidů.
eugenol		Bezbarvá až světle žlutá olejovitá kapalina. Získává se extrakcí některých esenciálních olejů (z hřebíčku, muškátového oříšku, skořice nebo bobkového listu). Používá se při výrobě parfémů, ochucovadel nebo esenciálních olejů.
farnesol		Hydrofobní bezbarvá kapalina nerozpustná ve vodě, mísitelná s oleji. Je součástí esenciálních olejů a používá se v parfémech.
geraniol		Čirý až světle žlutý olej nerozpustný ve vodě. Voní po růžích a používá se v parfémech s ovocnými vůněmi.

Tabulka 1: Potenciálně alergenní aromatické látky a jejich vlastnosti – pokračování

Alergen	Struktura	Vlastnosti
hexylcinnamal		Světle až sytě žlutá kapalina nebo pevná látka. Vyskytuje se v esenciálním oleji heřmánku. Používá se při výrobě kosmetiky a parfému.
hydroxycitronellal		Bezbarvá viskózní kapalina. Má konvalinkovou až liliovou vůni. Je součástí parfémů, insekticidů a čisticích prostředků.
isoeugenol		Bezbarvá až nažloutlá viskózní kapalina. Voní po karafiátech. Vyskytuje se v rostlinách a éterických olejích. Používá se ke korekci aroma čajů.
$\alpha$ -isomethyl jonon		Čirá, bezbarvá nebo žlutá tekutina. Je syntetickou vonnou látkou. Voní po květinách, používá se jako součást kosmetických výrobků.
kumarin		Bílá krystalická látka. Vůni připomíná seno. Používá se v potravinářství i kosmetice, nebo jako deratizační prostředek proti hlodavcům.
lilial		Bezbarvá nebo nažloutlá olejovitá kapalina. Voní jako lipový květ. V přírodě se nevyskytuje, jedná se o synteticky vyrobenou látku. Používá se k aromatizaci alkoholických nápojů. Snižuje srážlivost krve.
limonen		Bezbarvá kapalina s vůní citrusů. Na vzduchu snadno oxiduje za vzniku vůně kmínu. Vyskytuje se v citrusech, pepři, muškátovém oříšku nebo tea tree oleji.

Tabulka 1: Potenciálně alergenní aromatické látky a jejich vlastnosti – pokračování

Alergen	Struktura	Vlastnosti
linalool		Bezbarvá kapalina s výraznou konvalinkovou vůní. Je obsažen v mnoha silicích. Používá se v kosmetice, především v šamponech, sprejích na vlasy nebo mýdlech.
lyral		Bezbarvá olejovitá kapalina s květinovou vůní. Vůně je intenzivní a působí velmi dlouho, proto se používá v parfémeh.
methylheptyn karbonát		Bezbarvá nebo nažloutlá látka vyrobená synteticky, v přírodě se nevyskytuje. Má dobrou mísitelnost s dalšími vonnými látkami, proto je součástí kosmetických výrobků.
Oakmoss extrakt		Extrakt z větvičníku slívového s aseptickými vlastnostmi. Je základem vůní v kosmetice.
Treemos extrakt		Extrakt z terčovky otrubičnaté. Vůní připomíná dřevo. Má antimikrobiální účinky, používá se v kosmetice.

## 2.2 Nečokoládové cukrovinky

Nečokoládovými cukrovinkami se míní potraviny, mezi něž nepatří čokolády a čokoládové bonbony, avšak čokoládu obsahovat mohou. Jejich hlavní složku tvoří přírodní nebo přídatná sladidla. V případě, kdy cukrovinka obsahuje více než 5 % čokolády, je možné do názvu výrobku přidat spojení „s čokoládou“. Přehled nečokoládových cukrovinek obsahuje Tabulka 2 [14].

Experimentální část práce je zaměřena na kyselé cukrovinky skupiny želé. Legislativa (vyhláška č. 76/2003 Sb.) tuto skupinu definuje jako „cukrovinky s konzistencí gelu vzniklou přidáním želírujících látek, zejména pektinu, agaru, škrobu nebo želatiny“ [14].

Tabulka 3: Rozdělení nečokoládových cukrovinek [14]

Druh	Skupina	Podskupina
cukrovinky	karamely	tukové s jádrovinami, s ovocnou příchutí, mléčné, kakaové nebo kávové, podle druhu vložky (cukrová, želé, jádroviny, sušené ovoce nebo proslazené, marcipán a další)
	dražé	
	želé	
	rahat	
	chalva	
	turecký med	
	lékořicové cukrovinky	
	pěnové cukrovinky (marshmallow)	
	komprimáty	
	žvýkačky	balónkové (bubble gum) plátkové dražované
	dropsy	
	roksy	
	furé	s tukovou náplní s cukernou (sirupovou) náplní
	marcipán	
	fondánové cukrovinky	

### 2.3 Technologie výroby nečokoládových cukrovinek

Základní surovinou pro výrobu nečokoládových cukrovinek byl po dlouhou dobu med. Poté se v Indii podařilo izolovat sacharózu ze třtiny a odtud se rozšířila do celého světa. Kvůli vysoké ceně cukru byly cukrovinky ale cenově nedostupné a vzácné. Teprve s rozvojem výroby z cukru z řepy v polovině 19. století se staly dostupnějšími [1].

V dnešní době jsou základními surovinami pro výrobu všech nečokoládových cukrovinek roztoky nebo suspenze sacharózy a škrobového nebo maltózového sirupu ve vodě. Souhrnně se tyto roztoky nazývají cukrosirupové roztoky. Rozpustnost sacharózy klesá s přidáním škrobového sirupu oproti čistým roztokům. Škrobový sirup napomáhá vzniku amorfni cukerné hmoty a zabraňuje krystalizaci sacharózy. Zcela zabránit krystalizaci může rovněž i maltózový sirup, a to v důsledku rozšíření střední oblasti přesycení. Toho se využívá u výroby želé a kandytů. Poměr hmotností cukru a škrobového sirupu se u jednotlivých cukrovinek liší a je udáván tzv. varným poměrem [1, 15].

Invertní cukr má podobné vlastnosti jako škrobový sirup, ovšem jeho použití má řadu nevýhod. Hmoty vyrobené tímto způsobem zvyšuje její sladkost, a navíc je více hygroskopická [1].

## 2.3.1 Cukrovinky s vykrystalizovanými cukry

### 2.3.1.1 *Komprimáty*

Jedná se o cukrovinky, jejichž hlavní součástí je sacharóza, případně u „zdravotních“ komprimátů částečně i glukóza. Vyrábí se lisováním ochucených obarvených práškovitých směsí do různých tvarů, nejčastěji tablet. Aby bylo možné směsi lisovat, je nejprve potřeba provést granulaci směsi. Při ní se směs míchá s dalšími látkami, čímž se zvýší sypkost a pojivost a zároveň nedochází k lepení na razidla lisů [1, 16].

Ke spojení směsi se nejčastěji používá škrobový sirup, dále roztok želatiny, arabské gumy nebo pektinu. Kakaové máslo nebo stearan hlinitý se využívají jako mazací látky, které snižují lepivost na lisovací stroje, čímž snižují jejich opotřebení [1, 16].

Po smíchání těchto látek probíhá granulace, při níž se odstraní prachové a jemné částice, které mohou narušit soudržnost tablety. Probíhá v síťovém vibračním žlabu a získá se tak sypká směs s částicemi určité velikosti [1, 16].

Hotová granulovaná směs obsahuje asi 3 % vody. Výrobek smí obsahovat pouze 0,5 % vody, proto se aplikuje sušení ve fluidních sušárnách. Usušená granulovaná směs se poté okyseluje a aromatizuje v míchacích strojích a následně se provádí lisování do požadovaných tvarů [1, 16].

### 2.3.1.2 *Fondánové cukrovinky*

Fondány jsou cukrovinky složené ze sacharózy, škrobového sirupu a vody. Mají polotuhou až tuhou konzistenci, jejich mléčné zbarvení je způsobeno dispergovanými krystalky sacharózy v nasyceném cukerném roztoku [1, 16].

Fondánový roztok se získává rozpuštěním a svařením sacharózy a škrobového sirupu. Podle druhu cukrovinky se upravuje stupeň varu, který se pohybuje v rozmezí 177 až 120 °C. Vzniklý roztok se částečně chladí a poté se rušenou krystalizací převede na krystalickou fondánovou hmotu. Ta se nalévá do škrobových forem. Nejčastěji se používá kukuřičný škrob, který je velmi jemný. Po ztuhnutí fondánu se škrob vysype a odstraní stlačeným vzduchem [1, 16].

Při výrobě je nutné fondánovou hmotu rychle ochlazovat, vzniká tak velký počet malých krystalků. Velikost krystalů sacharózy je důležitá kvůli chuti a hrubosti na jazyku a zejména pak hraje roli při skladování. Při vyšších teplotách se krystalky rozpouštějí a zmenšují, naopak při ochlazování žádné nové nevznikají a rostou pouze ty, které již existují. Kvůli kolísání teplot je proto důležité, aby co největší počet krystalků měl podobné rozměry, což se pak odráží na kvalitě [1].

V konečné fázi výroby se provádí proces kandýrování, které slouží k ochraně fondánu proti vysychání a tvrdnutí. Jedná se o mokré kandýrování, kdy se vložky máčí do přesyceného roztoku sacharózy nazývaného kandys. Suché kandýrování je charakteristické pro želé cukrovinky, kdy se vložky obalují v krystalickém cukru [1, 16].

### 2.3.1.3 *Marcipán*

Marcipán je cukrovinka, která se vyrábí ze sacharózy a z pařených oloupaných sladkých mandlí. Při pokojové teplotě tvoří měkkou viskózní hmotu. Kvalita marcipánu závisí především na kvalitě použitých mandlí [1].



Mandle se nejprve spaří horkou vodou, aby je bylo možné oloupat. Poté se nahrubo rozdrť a smíchají s cukrem. Směs se dále zjemňuje válcováním. Mandlová chuť marcipánu je způsobena tím, že částice mandlí jsou větší než částice cukru. Zároveň ale nejsou tak malé, aby došlo k uvolnění tuku, takže výsledná hmota není mastná [1, 16].

Marcipán lze vyrobit i jiným způsobem, kdy se oloupané mandle zjemněné válcováním smíchají s roztokem cukru v tepelném výměníku. Zde se za neustálého míchání směs zahřívá a díky vykryštalizování sacharózy za těchto podmínek vznikne těstovitá hmota [1, 16].

Přebytečná vlhkost se odstraňuje restováním v restovacích kotlích, vzniká tak hmota marcipánu požadované konzistence. Ta se dále smíchává s práškovým cukrem, škrobovým sirupem nebo fondánem ve hnětacích strojích. Hmota se upravuje přidávkou barviv, aromatických látek a konzervantů [1, 16].

## **2.3.2 Cukrovinky s nevykryštalizovanými cukry**

### **2.3.2.1 Gumovité cukrovinky**

Gumovité cukrovinky obsahují kromě škrobového sirupu nebo sacharózy také látky, které tvoří gumovitou konzistenci. Nejčastěji se používá želatina, arabská guma, škrob nebo směs pektinu s karagenanem. Každá z těchto látek má jiný charakter, proto se liší i jejich zpracování a výsledná konzistence [1, 16].

Látky tvořící gumovitou konzistenci se nejprve rozpustí ve vodě, zároveň se připravuje cukerný roztok složený ze sacharózy a škrobového sirupu. Stupeň sváření cukerného roztoku je v rozmezí 121 až 136 °C. Po vychladnutí na 100 °C se pomalu přimíchávají látky způsobující gumovitý charakter. Podle typu výrobku je pak regulována další teplota [1, 17].

K zachování kvality gumovitých cukrovinek ze želatiny, která se spojuje s její vydatností, je nutné zamezit porušení želírující mohutnosti. Jedná se o test na sílu želatiny patentovaný O. T. Bloomem a udává se ve stupních (°BL) [1, 18].

Želatina se nejprve rozpouští v rozmezí teplot 30-40 °C, při 60 °C je možné připravit koncentrovanější roztok (až 30 %). Při vyšších teplotách se želatina začíná rozkládat, čímž se snižuje její pevnost. Po smíchání s cukerným roztokem se provádí číření, které zaručuje uvolnění vzduchových bublin z roztoku a vznik číré hmoty [1, 12].

Po ochucení a obarvení se hmota přelévá do škrobových forem. Prvních 10 až 12 hodin se ponechávají při teplotě okolí, poté se ohřívají na 43 až 46 °C. Podle druhu cukrovinky se liší doba, po kterou se ponechávají v sušicím prostoru. Měkké gumovité cukrovinky lze dále zpracovat již druhý den, naopak tvrdé cukrovinky se suší až několik dní [1, 12].

Po vyjmutí z forem se povrch cukrovinek upravuje různými způsoby podle druhu výrobku. Mohou se leštit olejem nebo obalovat krystalovým cukrem [1, 16].

Mezi gumovité cukrovinky patří také žvýkačí guma. K její výrobě se používá báze, která jí dodává žvýkavý charakter. Původně se na výrobu žvýkaček používaly přírodní gummy chicle gum nebo yelutong, ale se zvyšující se poptávkou je postupně nahradily gummy syntetické. Těmi jsou nejčastěji polyvinylester, polyvinylacetát nebo polyisobutylene. Dalšími surovinami pro výrobu jsou pak stabilizátory, zahušťovadla, emulgátory a antioxidanty. Při výrobě se cukrosirupový roztok smíchává s roztavenou bází ve výkonných hnětacích strojích. Do hmoty se postupně zapracovávají aromatické látky, nejčastěji éterické oleje z pepermintu, citronu nebo pomeranče. Pro snížení kyselosti zubů se sacharóza často nahrazuje jinými sladidly, například xylitolem, sorbitolem nebo isomaltem. Umělé sladidlo aspartam sensoricky upravuje sladkou chuť [1].

### 2.3.2.2 Želé

Želé cukrovinky jsou, podobně jako gumovité cukrovinky, vyráběné ze sacharózy, škrobového sirupu a želírujících látek. Tím lze docílit tvorbu pevného gelu, který je pro tento typ cukrovin charakteristický. Jako ovocné želé lze označit takové, které jako želírující látku používá ovocnou pomazánku, šťávu nebo dřev. Všechna ostatní želé se pak označují jako želé s ovocnou příchutí. Želírující látky mohou být různé podle požadavků na vlastnosti konečného výrobku. Nejčastěji se používá želatina, agar, škrob, pektiny nebo karagenan s dalším polysacharidem. Podle konzistence je pak nejjemnější želé pektinové, naopak želatinové je tuhé. Technologické parametry výroby želé a gumovitých cukrovin jsou znázorněny v Tabulce 4 [1].

Tabulka 4: Technologické parametry želé a gumovitých cukrovin [1]

	arabská guma	škrob	želatina	agar	pektin
obsah (%)	35-45	9-12	5-12,5	1-1,5	1-1,5
teplota 1 (°C)	25	71-82	60-65	87-95	93-100
teplota 2 (°C)	82	93	71-82	76	93
teplota 3 (°C)	71-82	82-93	71-82	65-76	82-93
teplota 4 (°C)	20-37	20-37	20-37	35-37	71-82
čas 4 (h)	24	12		3	1
vlhkost nalévacího škrobu (%)	5-8	5-8	5-8	5-8	5-10

Vysvětlivky: 1 – teplota rozpouštění želírující látky, 2 – teplota přidavku kyseliny, 3 – teplota při nalévání do škrobových forem, 4 – teplota a doba zrání

Při výrobě želé je nutné dbát na to, aby nedošlo k vykryštalizování sacharózy. Zároveň je potřeba zajistit optimální podmínky pro správnou želírující schopnost každé látky, která je závislá na teplotě, pH prostředí a koncentraci sacharózy. Synereze může být nežádoucím projevem špatně zvolených podmínek, kdy se želatinový gel smršťuje a na svůj povrch vytlačuje kapky vody [1].

*Škrobové želé*, známé jako rahat, se řadí mezi orientální cukrovinky. Vyrábí se ze suspenze sacharózy, škrobového sirupu a škrobu ve vodě. Při zahřívání zrna škrobu bobtnají a absorbují vodu. Poté dochází k rozpadu zrna a vzniku roztoku, který se následně ochlazuje a vzniká prostorová síť gelu. Gel je žvýkavý, lehce lepkavý a snadno se z něj uvolňuje chuť. Po vychladnutí ve škrobových formách se želé povrchově upravuje nejčastěji kandýrováním, případně se může nechat sušit pro vznik tenké kožovité vrstvy na povrchu [1].

*Želatinové želé* se vyrábí z želatiny a dalších přídatných látek. Želatina je kolagen získaný z částečně hydrolyzovaných kůží, pojiv a případně i kostí zvířat. Jedná se o čistou bílkovinu, která je lehce stravitelná. Skládá se z 18 aminokyselin spojených do řetězců až o tisíce jednotkách. Celkový přehled obsažených aminokyselin včetně esenciálních (tučně) je v Tabulce 5. Vstupní surovina je pod veterinární a technologickou kontrolou. Nejprve probíhá předúprava surovin, která zabezpečuje likvidaci veškerých mikroorganismů a živých zárodků. Poté se provádí několik horkovodních extrakcí, při kterých se získávají různé želatinové várky o různých koncentracích a kvalitě. Jednotlivé šarže se následně testují a smíchávají podle technologických požadavků. Do připraveného roztoku želatiny

se povolna přilévá cukerný roztok. K odpaření přebytné vody se používají nejčastěji vakuové odparky. Želírující schopnost želatiny je závislá na pH prostředí a izoelektrickém bodu želatiny. Často se okyseluje kyselinou citronovou. Výsledný produkt se nalévá do škrobových forem různých tvarů [1, 19].

*Tabulka 5: Aminokyseliny obsažené v želatině [19]*

aminokyseliny	hmotnost [g na 100 g želatiny]	aminokyseliny	hmotnost [g na 100 g želatiny]
glycin	22,3	<b>leucin</b>	2,8
prolin	13,6	<b>valin</b>	2,4
hydroxyprolin	114	<b>fenylalanin</b>	2,2
kyselina glutamová	9,6	<b>threonin</b>	1,9
alanin	9,1	<b>isoleucin</b>	1,2
<b>arginin</b>	7,7	<b>histidin</b>	0,9
kyselina asparagová	5,7	hydroxylysin	0,9
<b>lysin</b>	3,5	<b>methionin</b>	0,8
serin	3,5	tyrosin	0,5

*Pektinové želé* je velmi náročné na výrobu, protože je nutné striktně dodržovat všechny podmínky technologické výroby. Nejvýhodnější je použití vysokoesterifikovaných pektinů, které vytváří gely pouze v přítomnosti sacharózy a v úzkém rozmezí pH. Okyselené pektinové želé poměrně rychle tuhne, proto se používají regulátory tuhnutí, aby bylo možné želé tvarovat. Práškový pektin se nejprve smíchá se sacharózou, poté se směs rozpouští ve vodě a zamezí se tak tvorbě hrudek. Po rozpuštění se při varu přidává škrobový sirup a část z množství kyseliny. Po krátkém odpařování se přidává zbývající sacharóza. Dále probíhá zahušťování na požadované množství sušiny. Po částečném ochlazení se přidá zbylé množství kyseliny. Výsledná hmota se ihned nalévá do škrobových forem, protože velmi rychle tuhne [1].

### 2.3.2.3 Šlehané cukrovinky

Základní strukturu tohoto typu cukrovinek tvoří pěna vznikající nejčastěji šlehaním cukerného roztoku nebo pomocí pěnotvorného činidla. Cílem je „zlehčení“ cukrovinky, zvětšit její objem a zlepšit strukturu tak, aby se v ústech rozplývala. Ke stabilizaci pěny se používají látky bílkovinné povahy, které dodávají stěnám vzduchových bublin pevnost, tedy i stabilitu. Typickými příklady jsou marshmallow nebo francouzský nugát, který se někdy ztotožňuje s tureckým medem [1, 16].

Marshmallow se vyrábí z cukrosirupového roztoku, který se stabilizuje přidáním želatiny bohaté na bílkoviny. Následuje šlehání do požadované hustoty a nalévání do škrobových forem. Po vysušení se výrobek máčí v čokoládě anebo zasypává škrobem, aby nedocházelo ke slepení a deformaci [1, 16].

Nugát je v cizí cukrovinkářské terminologii cukrovinka původem z Francie, která se vyrábí z medu, cukru, vaječného bílku a ořechů. Dnes se vyrábí ve dvou typech. „Krátký“ nugát obsahuje část vykrytalizované sacharózy a k jeho výrobě se používá menší množství škrobového sirupu. Naopak „měkký“ nugát obsahuje více škrobového sirupu a méně sacharózy, aby se zabránilo krystalizaci [1, 16].

#### 2.3.2.4 Kandyty

Kandyty jsou tvrdé cukrovinky sklovitého vzhledu, které mohou být plněné i bez náplně. Jejich základem je kandytová hmota získaná odpařením vody z cukrosirupového roztoku na 1-3 %. Obsah vody ve hmotě musí být takový, aby nedošlo k vykryštalizování sacharózy před ztuhnutím konečného výrobku [1, 16].

Při výrobě kandytové hmoty se dává do poměru hmotnost sacharózy a škrobového sirupu, tzv. varný poměr. Stupeň sváření udává, při jaké teplotě probíhá odpařování cukrosirupového roztoku na kandytovou hmotu. Vlhkost produkované hmoty musí být maximálně 3 %, poté probíhá chlazení. V této fázi se přidávají senzorické látky, tedy aroma, barviva a ochucovací kyseliny. Zejména kyseliny je nutné přidávat při teplotách pod 120 °C a poté co nejrychleji chladit. Při vyšších teplotách dochází k rychlejší inverzi sacharózy, což pak způsobuje nežádoucí lepkavost hmoty [1, 16].

Připravená hmota je následně temperována, respektive opatrně ochlazována. Hmota získává plastický charakter a během temperace je hnětena a překládána až do výsledného hranolu. Z toho se dále vytváří provazce, které mohou být plněny různými náplněmi. Provazce se dále natahují, následuje ražení hotových výrobků a doprava ke konečnému balení. Kandyty bez náplně se nazývají dropsy, s náplní fure [1, 16].

#### 2.3.2.5 Karamely

Karamely jsou cukrovinky měkké konzistence s matným vzhledem. Základem pro výrobu je sacharóza se škrobovým sirupem, ke kterým se přidává kondenzované mléko, máslo nebo ztužený tuk a další suroviny. Výsledná hmota je plastická se žvýkavým charakterem [1].

Stupeň sváření je nižší kvůli nízké stabilitě látek při vyšších teplotách. Labilní nekrystalický stav při výrobě je nutné podpořit přidavkem škrobového sirupu, který funguje jako antikryštalizátor. Přítomný tuk dodává karamelům pevnost a vlácnost. Většinou se používá ztužený tuk, který má teplotu tání nižší, než je teplota lidského těla, aby se rozplýval v ústech. Tuk je ve hmotě emulgován, aby se zajistila stabilita produktu. Vhodným emulgátorem je například lecitin nebo glycerylmonostearát, který zároveň snižuje lepivost hmoty, což se uplatňuje během formování a balení [1].

K ochucení karamelů se používá například vanilin, káva, kakaový prášek, sladové a ovocné výtažky, tresti a podobně. Pro výraznější chuť lze použít i kuchyňskou sůl. Výrobní postup je velmi podobný s výrobou kandytů, ale karamely mají větší obsah vody (4-7 %) [1].

### 2.4 Experimentální technika a použité metody

Stanovení aromatických látek je jedním z velmi obtížných úkolů v analytické chemii. Výsledný vjem, který pociťujeme svými smyslovými orgány, je komplexem až 800 individuálních látek. Proto je vhodné tyto látky analyzovat senzorickým hodnocením v kombinaci s instrumentální analýzou. Nejčastější způsob, jak tyto látky stanovit, je použití plynové nebo kapalinové chromatografie. Vzhledem k zaměření experimentální části a použití plynového chromatografu s hmotnostní detekcí zde bude věnována pozornost právě této metodě. Zároveň bude zmíněna mikroextrakce tuhou fází (SPME), která byla aplikována pro izolaci aromatických látek z matrice vzorků [12].

#### 2.4.1 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (SPME – Solid Phase Microextraction) je v posledních letech velmi oblíbená v kombinaci s plynovou chromatografií a hmotnostní detekcí. Je totiž rychlá, jednoduchá a není potřeba použít rozpouštědlo. Díky tomu nachází uplatnění při analýze znečištění životního prostředí (pesticidy, fenoly), ve farmaceutickém průmyslu (izolace terpenických sloučenin), léčebné kosmetice, potravinářství (vonné a chuťové látky, kontaminanty) nebo forenzní analýze či toxikologii [20, 21].

Jedná se o izolační metodu, ve které je sjednocený proces vzorkování a extrakce. Principem metody je sorpce cílených analytů na stacionární fázi, která pokrývá křemenné vlákno uvnitř kovové jehly. Jehla slouží k ochraně vlákna před poškozením, neboť se jedná o nejdůležitější část zařízení. Zároveň slouží k propíchnutí septa vialky s analyzovaným vzorkem. Jehla s vláknem se zasune do vzorku, kde se vlákno při vzorkování vysune pomocí pístu a probíhá sorpce až do dosažení sorpční rovnováhy. Poté se vlákno zasune zpět do jehly a celá jehla se vloží do nástřikového prostoru plynového chromatografu, kde dojde k opětovnému vysunutí vlákna [21, 22].

Mezi výhody této metody patří vysoká přesnost, citlivost a rychlost stanovení. Výsledky stanovení lze ovlivnit několika faktory, především tloušťkou a polaritou stacionární fáze, teplotou vzorku nebo způsobem vzorkování. Silnější vrstva stacionární fáze dokáže zachytit více analytu, proto se používá při extrakci těkavějších látek. U polarity stacionární fáze platí stejná shoda jako při analýze na chromatografické koloně. Tedy k extrakci polárních analytů se používají polární vlákna a naopak. Zahříváním vzorku lze rychleji dosáhnout sorpční rovnováhy. Zároveň je zahřívání u některých méně těkavých sloučenin nutností, aby se v prostoru zvětšila jejich koncentrace a mohla proběhnout rychlejší a účinnější extrakce. K extrakci lze použít dva způsoby, a to DI-SPME a HS-SPME. První z nich je přímá SPME (Direct Immersing SPME), při které dochází k ponoření vlákna do kapalného vzorku. HS-SPME (Headspace SPME) je typ extrakce, kdy dochází k sorpci analytů v prostoru nad vzorkem v uzavřené nádobě (vialce). Využívá se zejména při extrakci těkavých látek [21, 22].

#### 2.4.2 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

Plynová chromatografie se řadí mezi fyzikálně-chemické metody separace látek ze směsi, která je založena na jejím rozdělení mezi dvě fáze. Jedna fáze se nazývá stacionární a je nepohyblivá, druhá z nich se nazývá mobilní a je pohyblivá. Cílem u plynové chromatografie je co nejúčinnější separace s minimální dobou analýzy. Plynový chromatograf se skládá ze zdroje nosného plynu, regulačních prvků upravujících tlak, injektoru, separační kolony a detektoru [23].

Stacionární fáze může být tvořena tenkou vrstvou kapaliny o vysoké viskozitě na nosiči. V takovém případě se hovoří o plynové rozdělovací chromatografii (GLC). U adsorpční plynové chromatografie (GSC) dochází k adsorpci z plynné fáze na povrch sorbentu. Stacionární fází může být například alumina, silikagel nebo styren-divinylbenzen. Častěji používanou metodou je GLC [24].

Mobilní fází je nosný plyn, který je vůči vzorku a stacionární fázi inertní. Nejčastěji se používá dusík, helium, vodík nebo argon. U všech nosných plynů je nutné provést optimalizaci průtokové rychlosti tak, aby byla co nejlepší účinnost separace. Rychlost proudění plynu v koloně je regulována pomocí ventilů. Principem regulace je rozdíl tlaků na začátku a na konci kolony, kdy na vstupu je tlak vyšší a na výstupu nejčastěji tlak atmosférický. Plyny používané jako mobilní fáze musí být bez vodní páry a nečistot [25].

Vzorek se dávkuje do chromatografické kolony pomocí vyhřátého injektoru. Nástřik se provádí nejčastěji pomocí jehly, která vzorek odebere a vstříkne do vyhřátého prostoru injektoru. V případě kapalného vzorku dojde ke mžikovému odpaření a vzniklý plyn je unášen protékajícím nosným plynem na kolonu. V případě plynného vzorku dochází k unášení mobilní fází ihned po nástřiku [26].

Nejčastěji používané kolony jsou náplňové a kapilární. Náplňové kolony jsou svinuté trubice z nerezové oceli nebo skla. Kapilární kolony jsou tenké kapiláry, nejčastěji z velmi čistého křemene, nerezové oceli nebo skla. Oproti náplňovým kolonám jsou kapilární kolony účinnější a umožňují separaci složitých směsí v kratším čase [27].

Separace vzorku na jednotlivé složky probíhá v koloně na základě interakce se stacionární fází. Separované látky následně procházejí přes detektor, který převede analytický signál na signál zpracovatelný počítačem nebo vyhodnocovací jednotkou. Používá se několik typů detektorů, a to tepelně vodivostní, plamenově ionizační, olfaktometrický, hmotnostní, detektor elektronového záchytu a další [28].

Použití plynové chromatografie s hmotnostním detektorem je velmi oblíbené, protože umožňuje analýzu nízkých koncentrací a zároveň dává informace o molekulární hmotnosti. Principem hmotnostní detekce je převedení plynného vzorku iontovou nebo chemickou ionizací na ionty. Nevýhodou je velký rozdíl tlaků, kdy ionizace probíhá ve vakuu a tlak na výstupu kolony je přibližně atmosférický. Je tedy nutné použít čerpací zařízení s vysokým výkonem, aby nosný plyn nemohl zasahovat do procesu ionizace [20].

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Laboratorní vybavení

##### 3.1.1 Přístroje

- Plynový chromatograf Trace™ 1310 se split/splitless injektorem (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Hmotnostní detektor ISQ™ LT Single Quadrupole (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)
- Knihovna spekter NIST/EPA/NIH, Verze 2.0 (Gaithersburg, Maryland, USA)
- Analytické digitální váhy HELAGO, GR-202-EC, Itálie

##### 3.1.2 Plyny

- Helium, čistota 4.8, v tlakové lahvi s redukčním ventilem (SIAD, Česká republika)

##### 3.1.3 Pracovní pomůcky

- SPME vlákno DVB/CAR/PDMS 50/30 µm, Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, USA
- Vialky o objemu 10 ml se šroubovacím magnetickým uzávěrem
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

#### 3.2 Analyzované vzorky

Celkem bylo zanalyzováno pět vybraných vzorků kyselých želé cukrovinek (žížalky, červíci, rybičky, medvídci) českých i zahraničních výrobců (viz. Obrázek 3). K analýze byly vybrány zelené želé bonbony, u kterých se předpokládá podobná příchut' (jablko) a aromatický profil.

Všechny vzorky byly pracovně označeny V1 až V5, aby byla zachována anonymita výrobců. Složení želé cukrovinek uvedené na obalech jednotlivými výrobci je zobrazeno v Tabulce 6. Vzorky byly uchovávány v původních obalech v lednici až do doby analýzy.

Jednotlivé vzorky byly před analýzou rozkrájeny nožem na malé kousky. Navážka každého vzorku byla 3,00 g. Nakrájené kousky byly umístěny na dno vialek tak, aby nemohlo dojít ke kontaktu vzorku se SPME vláknem. Poté byla vialka uzavřena septem a umístěna do autosampleru. Vzorek před umístěním do autosampleru je znázorněn na Obrázku 2. Každý vzorek byl změřen pouze jednou.








Obrázek 2: Vzorek připravený pro analýzu

Tabulka 6: Přehled analyzovaných vzorků želé cukrovinek (složení uvedené na obalech)

Vzorek	Složení
V1	Glukózový sirup, cukr, vepřová želatina, kyseliny: kyselina citronová, mléčná, jablečná; koncentráty ovocných šťáv (černý bez, pomeranč, jahoda, černý rybíz, malina, jablko, citron, ananas), ovocné a rostlinné extrakty (jablko, světlice barvířská), koncentrát dřeně kiwi, extrakt černého bezu, extrakt světlice barvířské, <b>aroma</b> , přírodní pomerančové aroma, koncentrát spiruliny.
V2	Glukózový sirup, cukr, pitná voda, jablečná šťáva z koncentrátu 5 %, želatina, modifikovaný bramborový škrob, kyseliny (kyselina mléčná, jablečná, vinná, citronová), <b>aromata</b> (jablko, citron), regulátory kyselosti (askorban sodný), extrakt spiruliny, koncentrát světlice barvířské, barvivo (kurkumin).
V3	Glukózový sirup, cukr, škrob, voda, jedlá želatina, kyseliny: citronová, jablečná, ovocné a rostlinné koncentráty: mrkev, světlice barvířská, řasa spirulina, ředkev, sladké brambory, černý rybíz, ibišek, jablko, pomeranč, černý bez, citron, <b>aroma</b> , lešticí látka: karnaubský vosk, sirup z karamelizovaného cukru, sirup z invertního cukru.
V4	Glukózový sirup, cukr, želatina, voda, kyselina (kyselina citronová, jablečná), <b>aromata</b> , barviva (karmíny, měďnaté komplexy chlorofylů a chlorofylinů, paprikový extrakt), rostlinné oleje (bambucké máslo, kokosový olej).
V5	Glukózový sirup, cukr, voda, modifikovaný škrob bramborový, želatina, regulátor kyselosti (kyselina citronová), koncentrát šťávy z hroznového vína 1,25 %, zvlhčující látka (sorbitol), kyseliny (kyselina mléčná a fumarová), barviva (kurkumin, chlorofyly a chlorofyliny, paprikový extrakt, bezinkový koncentrát), <b>aromata</b> .



V1	
V2	
V3	
V4	
V5	

*Obrázek 3: Vzhled želatinových cukrovinek jednotlivých výrobců*

### 3.3 Metoda HS-SPME-GC-MS

Identifikace aromatických a potenciálně alergenních aromatických látek ve vzorcích byla provedena metodou SPME ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí.

#### 3.3.1 Podmínky SPME extrakce

- Doba inkubace (temperování) 10 minut
- Doba extrakce 20 minut
- Teplota extrakce a inkubace (teplota agitátoru) 40 °C
- Agitátor zapnutý 5 sekund, vypnutý 60 sekund
- Množství vzorku 3,00 g
- Hloubka ponoření vlákna do vialky 20 mm

#### 3.3.2 Podmínky GC-MS analýzy

- Kapilární kolona TG-WaxMS (30 m × 0,25 mm × 0,5 μm)
- Teplota injektoru (desorpce) 240 °C
- Doba desorpce 20 minut
- Dávkování splitless, ventil uzavřen 10 minut
- Hloubka ponoření vlákna do injektoru 40 mm
- Nosný plyn helium, průtok 1 ml·min<sup>-1</sup>
- Teplotní program 40 °C s výdrží 2 minuty, vzestupný gradient 3 °C/min. do 110 °C s výdrží 10 minut, vzestupný gradient 3 °C/min do 200 °C s výdrží 0 minut, celková doba analýzy 65 minut
- Hmotnostní detektor v modu EI, energie ionizačních elektronů 70 eV, teplota iontového zdroje 200 °C, skenovací rozsah m/z 30–370 amu, rychlost skenování 0,2 s

### 3.4 Vyhodnocení výsledků HS-SPME-GC-MS analýzy

Výstupem každého měření byl chromatogram. Jednotlivé aromaticky aktivní látky byly identifikovány na základě srovnání hmotnostních spekter s dostupnými knihovnami spekter. Porovnání obsahu jednotlivých skupin identifikovaných sloučenin je vyjádřeno semikvantitativně pomocí ploch příslušných píků na chromatogramu. Data byla zpracována a vyhodnocena pomocí programu MS Excel 365.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Tato práce se zabývá identifikací aromatických látek vybraných druhů nečokoládových cukrovinek se zaměřením na potenciálně alergenní aromatické látky. Jako modelové vzorky byly použity kyselé cukrovinky typu želé v zelené barvě pěti různých výrobců. U všech vzorků byla předpokládána stejná příchut' (jablko) a tedy i podobný aromatický profil. Cílem bylo porovnat rozdíly ve složení a obsahu aromatických a potenciálně alergenních aromatických látek u jednotlivých vzorků.

Želé cukrovinky jsou legislativně definovány jako „*cukrovinky s konzistencí gelu vzniklou přidávkou želírujících látek, zejména pektinu, agaru, škrobu nebo želatiny*“ [14]. Pro spotřebitele je velmi důležitá kvalita výrobku, která spočívá především v senzoričeských vlastnostech. Kromě vzhledu cukrovinky je důležitým parametrem i vůně, kterou výrobci zajišťují přidávkou nejrozličnějších aromat. Jedná se o směsi různých AAL, které se používají k aromatizaci potravin – konkrétní charakterizace je uvedena v kapitole 2.1.1. Jejich použití jsou výrobci povinni označit na obal. Ovšem legislativa umožňuje k označení použít termín „aroma“, takže výrobky mohou obsahovat i některé aromaticky aktivní látky, které jsou klasifikované jako potenciálně alergenní. Tímto způsobem byly označeny všechny analyzované vzorky, přičemž v každém vzorku byla identifikována minimálně jedna potenciálně alergenní AAL.

Dalším cílem této bakalářské práce bylo porovnat aromatický profil jednotlivých vzorků. K identifikaci aromaticky aktivních látek byla použita metoda HS-SPME-GC-MS, jejíž podmínky jsou uvedeny v kapitole 3.3. K porovnání aromatického profilu byla provedena semikvantitativní analýza.

### 4.1 Identifikace aromaticky aktivních látek ve vzorcích

Identifikace těkavých látek ve vzorcích byla provedena srovnáním hmotnostních spekter s dostupnými knihovny spekter. Získané chromatogramy jsou uvedeny v Přílohách 1-5.

Následující Tabulka 7 obsahuje přehled identifikovaných látek ve všech vzorcích. Detekované látky jsou seřazeny podle rostoucího retenčního času (RT). Pravděpodobnost udává shodu dané sloučeniny s knihovnou spekter. Symbolem \* je označena pravděpodobnost v rozmezí 0–49 %, \*\* značí rozmezí 50–89 % a \*\*\* odpovídají intervalu 90–100 %.

Potenciálně alergenní aromatické látky jsou v Tabulce 7 označeny barevně. Pomocí symbolu \*\*\*\* jsou označeny látky, které byly v literatuře nalezeny jako aromaticky aktivní [29].

Tabulka 7: Těkavé látky identifikované v jednotlivých vzorcích kyselých želé cukrovinek

Látka	RT [min.]	V1	V2	V3	V4	V5	Aromaticky aktivní
		Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	
ethylacetát	3,99	**	**	**	-	**	****
propylacetát	5,85	-	-	*	-	*	****
2-methylmethylester kyseliny butanové	6,77	-	***	-	-	***	****
ethylester kyseliny butanové	7,62	**	**	**	**	**	****
ethyl-2-methylester kyseliny butanové	8,10	***	-	**	***	***	****
ethyl-3-methylester kyseliny butanové	8,62	**	-	-	-	-	****
butylester kyseliny octové	9,00	-	-	-	-	*	****
hexanal	9,20	*	-	*	-	**	****
2-propen-1-ol	10,41	-	-	-	*	-	
3-methyl-1-butanol acetát	10,71	-	**	-	**	**	
ethylester kyseliny pentanové	11,21	-	-	**	-	-	
butanol	11,58	**	-	-	-	**	****
β-myrcen	12,31	**	-	-	-	**	****
ethylester kyseliny 2-butenové	12,39	-	-	-	**	-	
isobutyl isovalerát	13,41	-	-	**	-	-	****
D-Limonen	13,69	**	**	*	*	*	****
1,2-dimethylcyklopropan	14,14	-	*	-	-	-	
2-methyl-1-butanol	14,15	**	-	-	-	*	****
2-hexenal	14,74	**	-	-	-	*	****
ethylester kyseliny hexanové	15,29	-	-	*	**	**	****
γ-terpinen	15,70	-	-	-	*	-	****
hexylester kyseliny octové	17,09	**	**	**	-	**	****
oktanal	17,70	-	**	**	**	**	****
3-methyl-3-methylbutylester kyseliny butanové	17,84	*	-	-	-	-	

Tabulka 7: Těkavé látky identifikované v jednotlivých vzorcích kyselých želé cukrovinek – pokračování

Látka	RT [min.]	V1	V2	V3	V4	V5	Aromaticky aktivní
		Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	
4-hexen-1-ol acetát	18,96	*	*	-	*	*	
2-hexen-1-ol acetát	19,70	-	-	-	-	**	
4-methyl-2-(1-methylethyl)-thiazol	20,32	-	-	***	***	-	
hexanol	20,51	**	*	-	*	**	****
2-propenylester kyseliny hexanové	21,29	**	-	-	**	**	
3-hexen-1-ol	21,84	*	**	*	*	**	****
kyselina 2-methylheptanová	22,04	-	-	**	-	-	
nonanal	22,23	*	**	**	-	**	****
2-hexen-1-ol	22,78	*	-	*	-	*	****
kyselina octová	25,23	**	**	**	**	**	****
3-furaldehyd	25,46	**	**	**	-	**	
2-ethyl-1-hexanol	26,26	-	*	*	-	*	
dekanal	26,69	-	*	-	-	**	****
butyl laktát	27,90	**	-	-	-	-	****
benzaldehyd	28,14	-	-	*	-	*	****
linalool	29,26	**	*	*	*	*	****
kyselina propionová	29,53	**	-	-	-	**	
isoamyl laktát	30,47	*	-	-	-	-	
dimethyl sulfoxid	30,78	**	-	-	-	-	
1,2-propandiol 1-acetát	31,00	-	-	-	**	**	
2-methylpropanová kyselina	31,31	-	-	**	-	-	
diethyl malonát	31,35	**	-	-	-	-	****
4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyklohexen-1-ol	32,63	-	**	-	**	**	
ethylester kyseliny 4-oxopentanové	33,50	-	-	-	***	-	

Tabulka 7: Těkavé látky identifikované v jednotlivých vzorcích kyselých želé cukrovinek – pokračování

Látka	RT [min.]	V1	V2	V3	V4	V5	Aromaticky aktivní
		Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	Pravděpodobnost	
kyselina butanová	35,88	**	-	-	**	*	
2,6-dimethyl-2,6-oktadien	37,27	-	*	-	-	-	
2-furanmethanol	37,80	**	**	**	**	**	
3,7-dimethyl-2,6-oktadienal	38,67	-	-	-	*	-	
2-methylbutanová kyselina	38,83	*	-	-	*	**	
$\alpha$ -terpineol	39,78	*	**	**	*	*	****
hexylester kyseliny methoxyoctové	41,43	**	*	-	-	**	
fenylmethylester kyseliny octové	41,88	-	-	**	-	-	
citral 1	41,89	-	-	-	**	-	****
citral 2	41,98	-	-	-	-	*	****
3-hexenyl acetát	44,45	-	-	-	-	*	****
mentha-1,5-dien-8-ol	44,67	-	**	-	-	**	
2-tridekanon	45,93	*	-	-	-	*	
1-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohexen-1-yl)-2-buten-1-on	46,07	-	-	-	**	-	
$\alpha$ -lonon	47,72	-	-	-	**	-	****
kyselina hexanová	48,35	**	*	*	*	**	****
benzylalkohol	49,31	-	*	-	*	*	****
trans- $\beta$ -lonon	51,53	-	-	-	**	-	****
3-methyl-2-(2-pentenyl)-2-cyklopenten-1-on	51,76	-	-	**	-	-	
kyselina oktanová	56,74	-	*	**	*	-	****
benzylbenzoát	57,07	*	-	-	-	**	****
5-hexyldihydro-2-furanon	59,22	-	**	-	**	-	
methylester kyseliny hexadekanové	61,46	*	-	-	-	-	
5-hydroxymethylfurfural	62,29	**	-	-	-	-	

Pravděpodobnost shody s knihovnou spekter: \* 0–49 %, \*\* 50–89 %, \*\*\* 90–100 %, \*\*\*\* látky prokazatelně aromaticky aktivní

Ve vybraných vzorcích bylo celkem identifikováno 72 různých sloučenin. Jednalo se o 11 aldehydů, 14 alkoholů, 27 esterů, 1 heterocyklus, 8 karboxylových kyselin, 6 ketonů, 4 uhlovodíky a 1 sirnou sloučeninu.

#### 4.1.1 Srovnání identifikovaných sloučenin ve vzorcích

Cílem této práce bylo porovnat aromatický profil na základě rozdílů v obsahu aromatických látek ve stejném typu vzorků od různých výrobců.

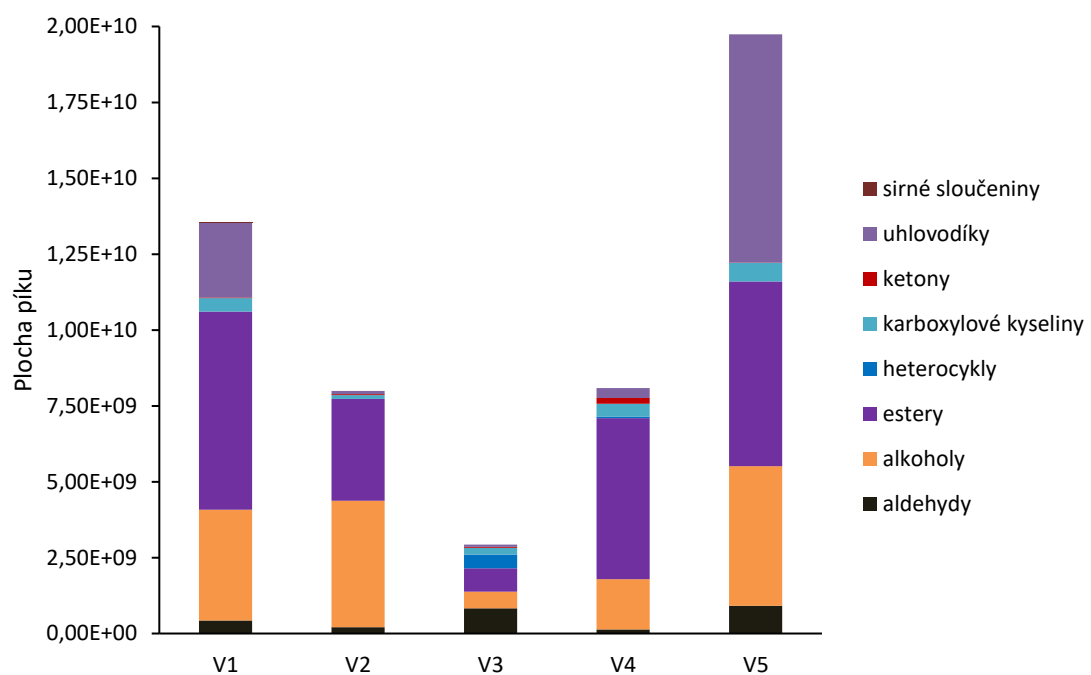
Obsah těkavých látek byl vyhodnocen především z hlediska kvalitativního. Z důvodu absence všech potřebných standardů byla provedena pouze semikvantitativní analýza na základě součtu ploch píků jednotlivých skupin AAL.

Počet aromaticky aktivních látek v jednotlivých vzorcích shrnuje Tabulka 8. Porovnání aromatického profilu zobrazuje Graf 1.

Z grafického znázornění je patrné, že se některé vzorky výrazně lišily v počtu i typu přítomných aromatických látek v závislosti na výrobcí. Nejvyšší počet sloučenin byl nalezen ve vzorku V5 s největším zastoupením esterů a alkoholů. Ve vzorku V1 byl nalezen druhý nejvyšší počet aromatických sloučenin. Ve vzorcích V2, V3 a V4 bylo nalezeno podobné množství sloučenin.

*Tabulka 8: Počet těkavých látek podle chemických skupin identifikovaných ve vzorcích*

	V1	V2	V3	V4	V5
aldehydy	5	4	5	3	8
alkoholy	8	9	6	9	12
estery	13	7	9	9	16
heterocykly	0	0	1	1	0
karboxylové kyseliny	5	3	5	5	5
ketony	1	1	1	4	1
uhlovodíky	2	3	1	1	2
sirné sloučeniny	1	0	1	0	0
celkem	35	27	29	32	44



*Graf 1: Porovnání chemických skupin v jednotlivých vzorcích*



## 5 ZÁVĚR

Nečokoládové cukrovinky jsou v dnešní době stále velmi populární a trh nabízí široký sortiment nejrůznějších druhů. K jejich aromatizaci se používají mimo jiné i látky, které se řadí mezi potenciálně alergenní. Největší cílovou skupinou těchto výrobků jsou děti, u kterých může dojít k projevům nebo rozvoji alergické reakce. Legislativa v České republice použití těchto látek nereguluje žádným zákonem ani nařízením, pouze se zabývá obsahem těchto látek v kosmetických výrobcích. Proto je problematika potenciálně alergenních aromatických látek stále aktuální.

Teoretická část zahrnuje literární rešerši aromaticky aktivních látek se zaměřením na potenciálně alergenní AAL, dále pak technologickou výrobu nečokoládových cukrovinek a popis použité metody v praktické části. Experimentální část se zabývá analýzou vybraných vzorků kyselých želé cukrovinek od pěti různých výrobců. K analýze byly vybrány zelené bonbony s příchutí jablka. Pro stanovení AAL byla použita metoda HS-SPME-GC-MS.

Celkem bylo identifikováno 72 různých sloučenin. Jednalo se o 11 aldehydů, 14 alkoholů, 27 esterů, 1 heterocyklus, 8 karboxylových kyselin, 6 ketonů, 4 uhlovodíky a 1 sirnou sloučeninu. Nejčastěji se ve vzorcích vyskytovaly estery a alkoholy.

Mezi jednotlivými vzorky byly nalezeny rozdíly v počtu i typu identifikovaných sloučenin, přestože se jednalo o stejný typ cukrovinky. Nejvyšší počet těkavých látek byl nalezen ve vzorku V5 (celkem 44), o 9 méně pak ve vzorku V1. Vzorky V2, V3 a V4 vykazovaly podobný počet těkavých sloučenin, a to okolo 30. U většiny vzorků bylo největší zastoupení esterů, případně alkoholů.

Součástí experimentální části byla semikvantitativní analýza na základě součtu ploch píků jednotlivých skupin AAL. Největší množství těkavých látek bylo nalezeno ve vzorku V5. Naopak nejmenší množství bylo identifikováno ve vzorku V3, i když obsahoval podobný počet těkavých látek jako vzorky V2 nebo V4.

Celkem byly nalezeny 3 potenciálně alergenní AAL, a to D-limonen, linalool a citral (2 izomery). Ve všech vzorcích se vyskytoval D-limonen a linalool, u vzorku V4 byl dále identifikován citral 1 a u vzorku V5 citral 2. Nejvýraznější pík potenciálně alergenní AAL, D-limonenu, byl zaznamenán u vzorku V5. Tato látka je přirozenou součástí aroma ovoce, ale i častou složkou aromat syntetických.

Tato práce poukazuje na rozdíly v obsahu AAL v nečokoládových cukrovinkách typu želé. Důraz byl kladen na přítomnost a množství potenciálně alergenních AAL, které se mohou vyskytovat v tomto druhu cukrovinek. Získané výsledky z této práce by měly posloužit jako podklad pro navazující výzkum, který se bude věnovat podrobnějšímu zkoumání obsahu alergenních AAL v cukrovinkách a jejich možným biologickým účinkům.

## 6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] ČOPIKOVÁ, Jana. *Technologie čokolády a cukrovinek*. Vyd. 1. Praha: VŠCHT, 1999. ISBN 80-708-0365-7
- [2] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin 2*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 623 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
- [3] EDITORS: RAMÓN GERARDO GUEVARA-GONZÁLEZ a Irineo TORRESPACHECO. *Advances in agricultural and food biotechnology*, 2006. Trivandrum, Kerala, India: Research Signpost, 2006. ISBN 81-773-6269-0.
- [4] Nařízení evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1334/2008 ze dne 16. prosince 2008 o látkách určených k aromatizaci a některých složkách potravin vyznačujících se aromatem pro použití v potravinách nebo na jejich povrchu a o změně nařízení Rady (EHS) č. 1601/91, nařízení (ES) č. 2232/96 a č. 110/2008 a směrnice 2000/13/ES. In: EUR-Lex [právní informační systém]. Úřad pro publikace Evropské unie [cit. 2. 11. 2018]. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:354:0034:0050:CS:PDF>
- [5] FUCHS, Martin. *Potravinová alergie a intolerance*. Praha: Mladá fronta, 2016. Edice postgraduální medicíny. ISBN 978-80-204-3757-0.
- [6] FUCHS, Martin. *Alergie číhá v jídle a pití*. 2., rozš. a přeprac. vyd. Plzeň: Adéla, c2007. Editio medicae. ISBN 80-902-5322-9.
- [7] Directive 2003/15/EC of the European Parliament and the Council of 27 February 2003 amending Council Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products. In: 2003. 2003. Dostupné z: <<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:066:0026:0035:en:PDF>>
- [8] MOKÁŇOVÁ, Radka. *Analýza vonných látek v kosmetických prostředcích metodou plynové chromatografie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 92 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Jana Zemanová, Ph.D.
- [9] Předpis č.260/2012 Sb., o zrušení vyhlášky č. 447/2004 Sb., o požadavcích na množství a druhy látek určených k aromatizaci potravin, podmínky jejich použití, požadavky na jejich zdravotní nezávadnost a podmínky použití chininu a kofeinu. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2012-260>
- [10] PLEVOVÁ, P. *Přítomnost alergenních vonných látek v nečokoládových cukrovinkách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2016. 69 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [11] ASCHEROVÁ, A. *Stanovení vybraných vonných látek v potravinách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 87 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.
- [12] VONÁŠEK, František, Ladislav NOVOTNÝ a Emilie TREPKOVÁ. *Látky vonné a chuťové*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1987. ISBN 04-810-87.
- [13] Epikutánní testy. KRATOCHVÍL, F. Epikutánní testy: Abecední seznam ICDRG autorizovaných alergenů [online]. 2007 [cit. 2018-02-25]. Dostupné z: <http://www.epitesty.cz/index.php?inc=sez&filt=A>
- [14] Vyhláška č. 76/2003 Sb., kterou se stanoví požadavky pro přírodní sladidla, med, cukrovinky, kakaový prášek a směsi kakaa s cukrem, čokoládu a čokoládové bonbony. In: Sbírka zákonů. 2003. Dostupné z: <<http://www.zakonyprolidi.cz/cs/2003-76>>

- [15] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemickotechnologická, 2002. ISBN 80-708-0509-9.
- [16] HRIVNA, Luděk. *Technologie sacharidů*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014. ISBN 978-80-7509-022-5
- [17] ASHURST, P. R., ed. *Food flavourings*. 2nd ed. Glasgow: Blackie, 1991. ISBN 978-1-4612-7838-2.
- [18] GLYN, O., PHILLIPS, P., WILLIAMS, A. *Handbook of hydrocolloids*. CRC Press North America 2000, 480s. ISBN 1-85573-501-6.
- [19] Želatina. In: HAGES - produkty: *Potravinářské ingredience* [online]. 2005 [cit. 2018-03-06]. Dostupné z: <https://www.hages.cz/katalogy/zelatina.pdf>
- [20] PICO, Joana, Beatriz ANTOLÍN, Laura ROMÁN, Manuel GÓMEZ a José BERNAL. Analysis of volatile compounds in gluten-free bread crusts with an optimised and validated SPME-GC/QTOF methodology. *Food Research International*. 2018, 686-695. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.048>.
- [21] SPME (Solid phase microextraction) *Mikroextrakce tuhých fází*. In: <https://fvhe.vfu.cz/> [online]. [cit. 2018-03-13]. Dostupné z: [https://fvhe.vfu.cz/informace-o-fakulte/sekce-ustavy/uvozp/teorie\\_spme.pdf](https://fvhe.vfu.cz/informace-o-fakulte/sekce-ustavy/uvozp/teorie_spme.pdf)
- [22] BOJKO, Barbara, Erasmus CUDJOE, German A. GÓMEZ-RÍOS, et al. SPME – *Quo vadis?* *Analytica Chimica Acta*. 2012, 750, 132-151. DOI: 10.1016/j.aca.2012.06.052. ISSN 00032670. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.06.052>.
- [23] SMOLKOVÁ, Eva, Věra PACÁKOVÁ a Ladislav FELTL. *Plynová chromatografie I.: Teoretické základy*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1975.
- [24] PICÓ GARCÍA, Yolanda, ed. *Chemical analysis of food: techniques and applications*. Amsterdam: Elsevier, 2012. ISBN 978-0-12384862-8.
- [25] SMOLKOVÁ, Eva, Věra PACÁKOVÁ a Ladislav FELTL. *Plynová chromatografie II.: Instrumentální část*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1975.
- [26] PRAUS, Petr a Jiřina VONTOROVÁ. *Analytická chemie II*. Ostrava: VŠB - Technická univerzita Ostrava, 2015. ISBN 978-80-248-3734-5.
- [27] KŘÍŽENECKÁ, Sylvie a Václav SYNEK. *Základy analytické chemie*. Ústí nad Labem: Univerzita J.E. Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta životního prostředí, 2014. ISBN 978-80-7414-804-0.
- [28] ŠTULÍK, Karel. *Analytické separační metody*. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [29] Lluch Essence. *Lluch Essence* [online]. [cit. 2018-04-15]. Dostupné z: <http://www.lluche.com/en/Pages/home.aspx>

## **7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ**

AAL	Aromaticky aktivní látky
ES	Evropské společenství
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
GSC	Plynová adsorpční chromatografie
GLC	Plynová rozdělovací chromatografie
SPME	Mikroextrakce tuhou fází

## 8 SEZNAM PŘÍLOH

*Příloha 1: Chromatogram identifikovaných těkavých látek ve vzorku V1*

*Příloha 2: Chromatogram identifikovaných těkavých látek ve vzorku V2*

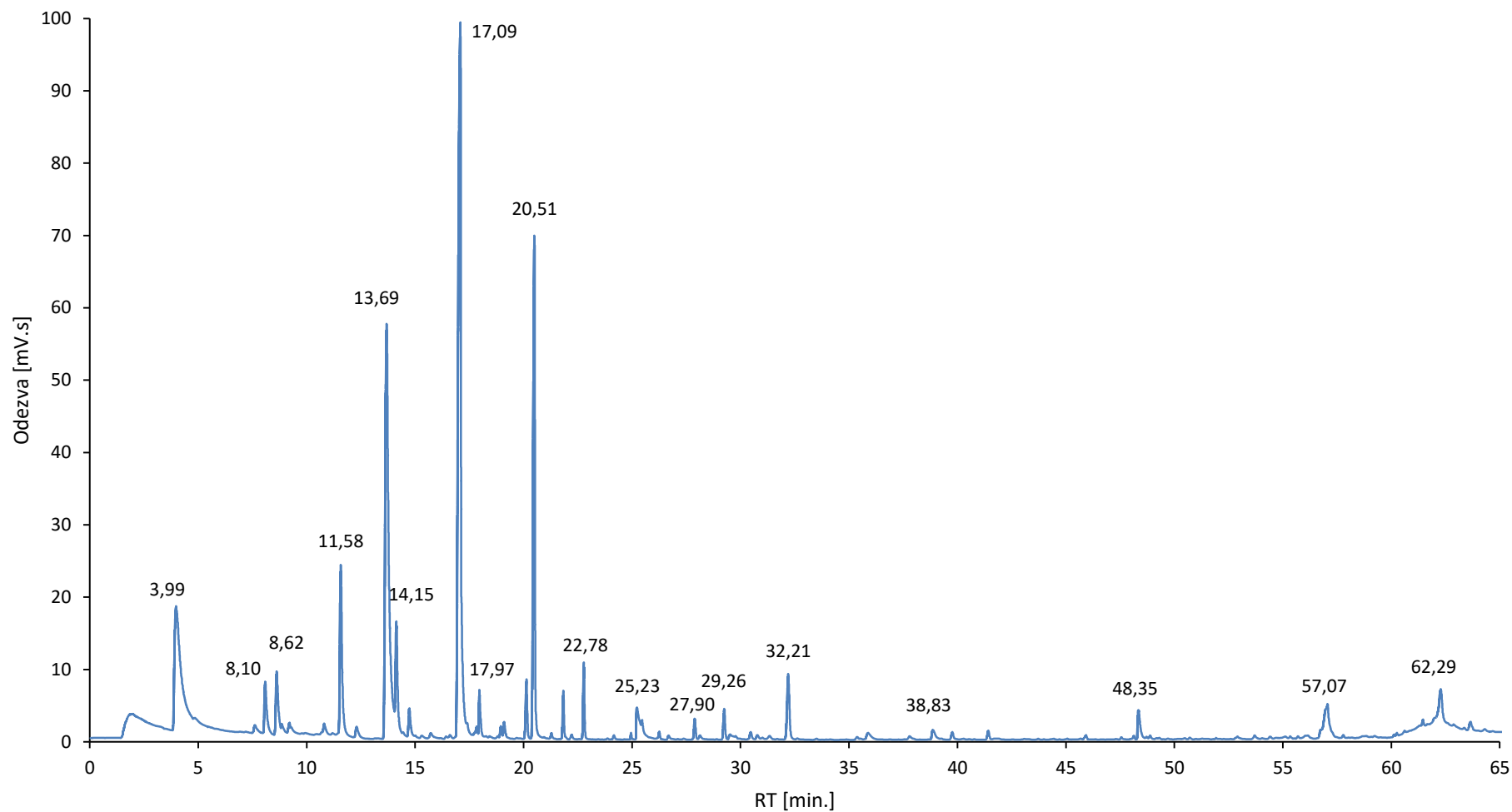
*Příloha 3: Chromatogram identifikovaných těkavých látek ve vzorku V3*

*Příloha 4: Chromatogram identifikovaných těkavých látek ve vzorku V4*

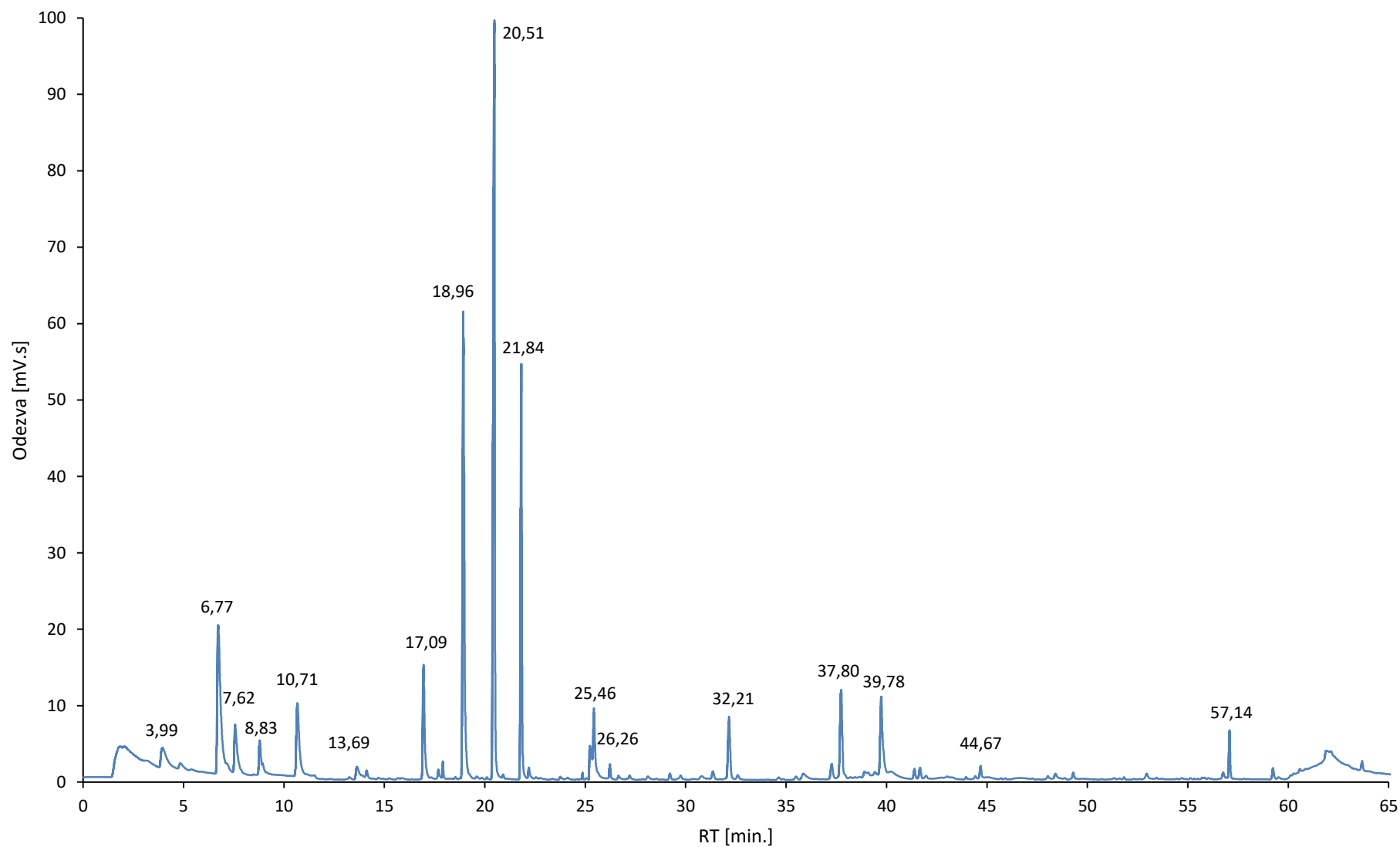
*Příloha 5: Chromatogram identifikovaných těkavých látek ve vzorku V5*

## 9 PŘÍLOHY

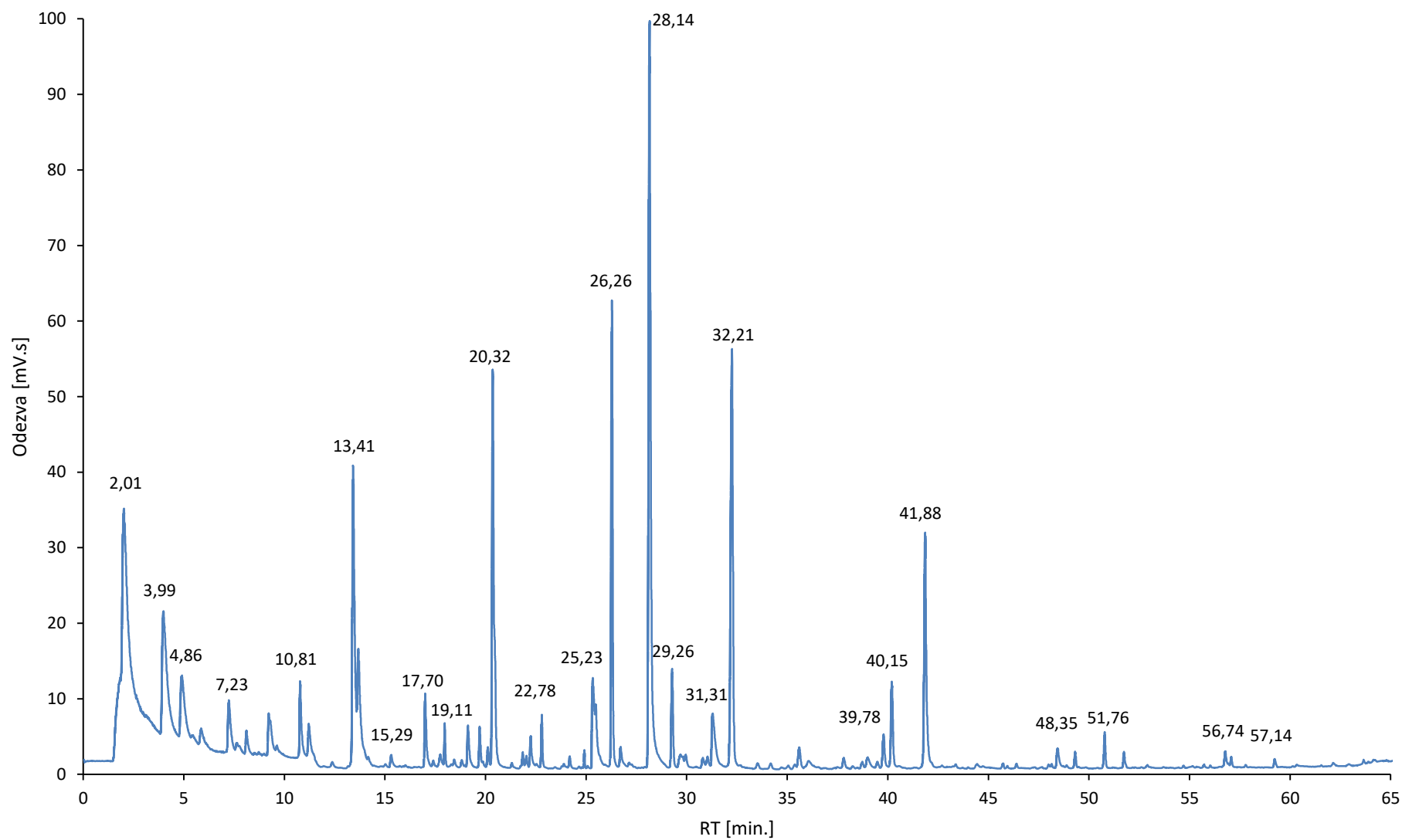
*Příloha 1: Chromatogram identifikovaných těkavých látek ve vzorku V1; identifikace píků viz. Tabulka 7*



*Příloha 2: Chromatogram identifikovaných těkavých látek ve vzorku V2; identifikace píků viz. Tabulka 7*

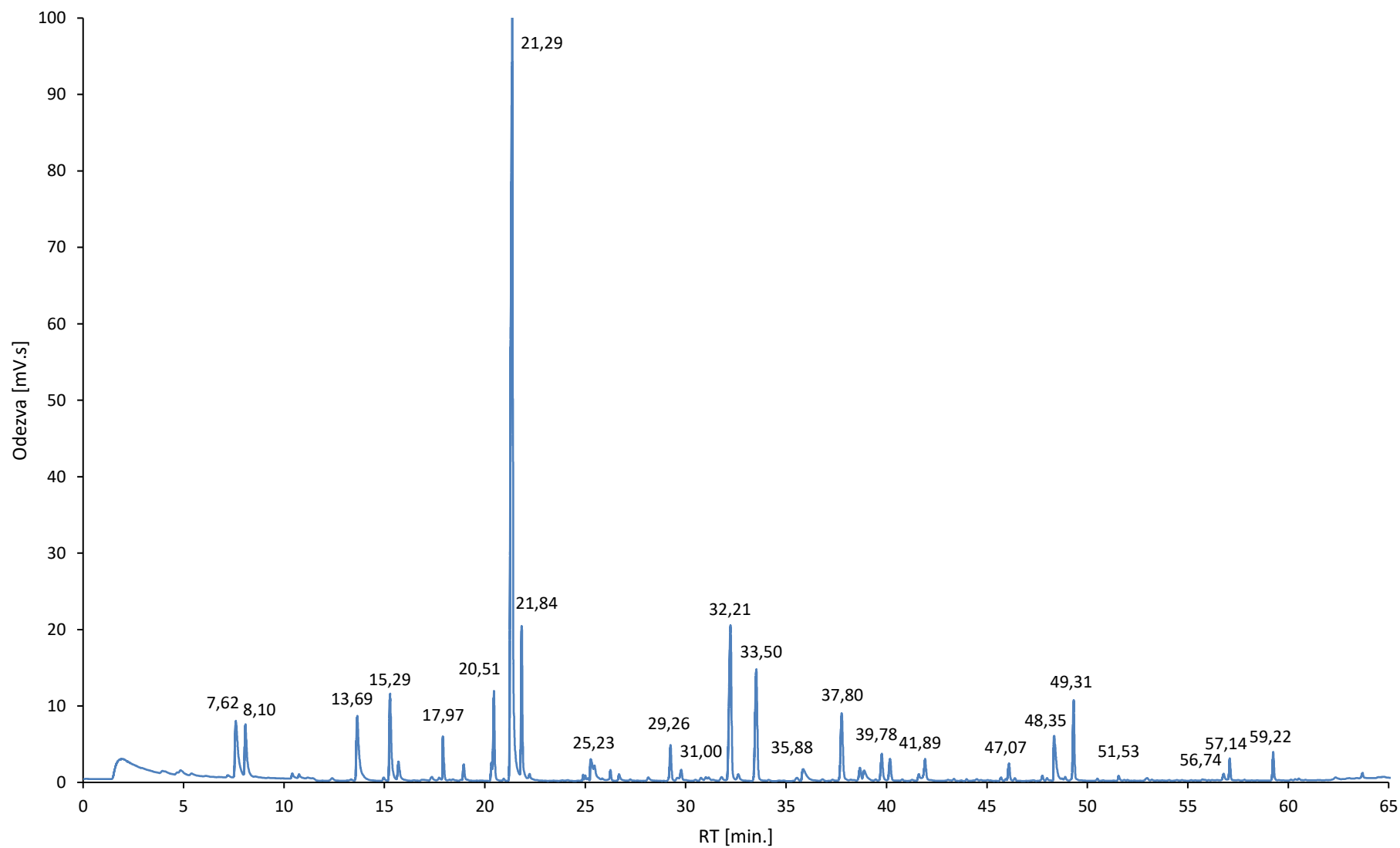


*Příloha 3: Chromatogram identifikovaných těkavých látek ve vzorku V3; identifikace píků viz. Tabulka 7*





*Příloha 4: Chromatogram identifikovaných těkavých látek ve vzorku V4; identifikace piků viz. Tabulka 7*



*Příloha 5: Chromatogram identifikovaných těkavých látek ve vzorku V5; identifikace píků viz. Tabulka 7*

